

Bewegung und Orientierung bei Volvox aureus Ehrb.

Der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von

Klaus Huth

aus Berlin

1969

Gustav Fischer Verlag Stuttgart 1970

Als Dissertation genehmigt
von der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Juli 1969

Dekan: Professor Dr. H. Wegener

1. Berichterstatter: Professor Dr. W. Haupt

2. Berichterstatter: Professor Dr. E. Kessler

Sonderdruck aus: Zeitschrift für Pflanzenphysiologie
Band 62, Seiten 436—450, und aus Band 63, Seiten 344—351

Nicht einzeln im Buchhandel!

Überreicht vom Verfasser

Sonderdruck aus
Zeitschrift für Pflanzenphysiologie
Band 62, Heft 5, Seite 436-450 (1970)
Gustav Fischer Verlag Stuttgart

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg

Bewegung und Orientierung bei *Volvox aureus* Ehrb.

I. Mechanismus der phototaktischen Reaktion*)

KLAUS HUTH

Mit 5 Abbildungen

Eingegangen am 3. Dezember 1969

*) Teil einer Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg.



Summary

Movement and orientation of *Volvox aureus*

I. Mechanism of phototactic response

The perception of light direction is possible only during movement of the colony. The perception system is sensitive to differences in light direction as low as 10° .

The orientation response is brought about by a specific stop response of the flagella of the illuminated flank of the colony, induced by the sudden increase of light intensity. This response can be observed microscopically in free moving and orienting colonies. This is in contrast to MAST who suggested a mechanism which makes use of different beating directions of the flagella as a response to changing the light intensity.

For the orienting mechanism based upon the stop response to be effective, some requirements are indispensable; it has been demonstrated that these requirements are fulfilled:

- a) There is no transfer of excitation from one cell to the other.
- b) Light of maximum phototactic effect (490 nm) crossing a colony is attenuated to about 60 per cent. A periodic change in light intensity from 60 to 100 per cent in the rhythm of the rotation of the colony results in rhythmic stop responses.
- c) Light crossing the edge of the colony tangentially is attenuated still more than to 60 per cent. Therefore, during lateral illumination of the colony and due to its rotation, the single cell undergoes a more complicated pattern of intensity changes, viz. increase of intensity also on the way from the flank to the shadow side of the colony. However, this increase does not induce a stop response because the low intensity does not last long enough for the cell being adapted to it. Otherwise, the row-boat effect would not operate.

Zusammenfassung

Die Bewegung und Orientierung der Kolonie sowie die phobische Reaktion der Einzelzellen wurden bei *Volvox aureus* mit folgenden Ergebnissen untersucht:

1. Eine Perception der Lichtrichtung ist nur während der Bewegung möglich.
2. *Volvox* vermag noch Lichtrichtungsänderungen von nur 10° zu percipieren.
3. Der Ruderboot-Mechanismus beim Einschwenken in eine neue Bewegungsrichtung beruht nicht auf einer Änderung der Geißelschlagrichtung, sondern auf einer Sperrstellung der Geißeln auf der lichtzugewandten Kolonieseite. Diese einseitige Sperrstellung konnte an frei beweglichen Kolonien direkt beobachtet werden. Weiterhin konnte nachgewiesen werden, daß alle theoretischen Voraussetzungen zum Funktionieren dieses Mechanismus erfüllt sind:

a) Eine Weiterleitung des phobischen Reizes durch die Plasmodesmen von Zelle zu Zelle findet nicht statt.

b) Im Maximum der phototaktischen Wirksamkeit (490 nm) wird das Licht beim Durchgang durch die Kolonie auf etwa 60 % reduziert; ein periodischer Lichtwechsel von 60 auf 100 im Rhythmus der Rotation löst periodische Sperrstellung aus.

c) Die Lichtschwächung am Rand der Kolonie ist wesentlich stärker als in der Mitte, so daß bei seitlicher Belichtung die Einzelzelle bei der Rotation auch beim Übertritt von der Lichtseite durch den dunklen Rand auf die weniger dunkle Schattenseite einer Intensitätserhöhung ausgesetzt ist; diese führt jedoch nicht zur Sperrstellung, da die vorhergehende Dunkeladaptationszeit zu kurz ist.

Einleitung

Die positiv phototaktische Orientierung von *Volvox* erfolgt durch ungleichen Vorwärtsantrieb der Geißeln auf der Licht- und der Schattenseite der Kolonie: Infolge der Rotation der Kolonie entstehen bei seitlicher Belichtung an den Einzelzellen periodische Intensitätssprünge und außerdem wechselt die Orientierung jeder Zelle zum Licht; dieser periodische Beleuchtungswechsel modifiziert den Geißelschlag derart, daß der Vorwärtsantrieb auf der Lichtseite der Kolonie geringer ist als auf der Schattenseite. Die Kolonie steuert also nach dem Prinzip des Ruderbootes die Lichtquelle an. Der ungleiche Antrieb durch die Geißeln könnte grundsätzlich auf zweierlei Weise zustande kommen:

1. Nach MAST (1926) kommt die Orientierung dadurch zustande, daß die Zellen der Kolonie die *Schlagrichtung* der Geißeln bei plötzlichem Intensitätswechsel verändern: die normalerweise schräg nach hinten schlagenden Geißeln werden bei einer Intensitätsverminderung zu einer noch mehr nach hinten gerichteten Schlagrichtung umgestimmt und bei einer Intensitätserhöhung zu einer mehr seitwärts gerichteten. An festgelegten Kolonien fand MAST eine Änderung der Strömungsrichtung der die Kolonie umgebenden Flüssigkeit, wenn er die Kolonie zunächst von vorn und dann von der Seite belichtete. Diese Richtungsänderung wurde nach kurzer Zeit (ca. 2,5 sec) ohne erneute Lichtrichtungsänderung selbsttätig aufgehoben. Aus dieser Änderung der Strömungsrichtung schloß MAST auf die vorübergehende Änderung der Schlagrichtung der Geißeln.

2. GERISCH (1959) fand eine phobische Reaktion der einzelnen Zellen der Kolonie bei plötzlicher Intensitätserhöhung: Die Geißeln stellen die Bewegung ein und zeigen eine charakteristische *Sperrstellung*; diese Sperrstellung auf der Lichtseite führt zu dem unterschiedlichen Antrieb. GERISCH konnte die phobische Reaktion der Zellen direkt beobachten. Er fand außerdem, daß bei einer Erhöhung der Intensität durch Entfernen des OG3-Filters eine gleichzeitige Verlangsamung von Translation und Rotation erfolgte; das steht im Widerspruch zu der Auffassung von MAST.

Beide Autoren arbeiteten mit sehr unterschiedlichen Intensitätssprüngen: MAST wechselt zwischen Belichtung von vorn und von der Seite bei konstanter Intensität und erreicht damit relativ geringfügige Absorptionsunterschiede an der Einzelzelle; GERISCH dagegen wechselt zwischen phototaktisch fast unwirksamem Rotlicht (OG3-Filter) und phototaktisch wirksamem Weißlicht in einem Rhythmus, der in der Größenordnung demjenigen der Kolonierotation entspricht.

Es gilt nun zu untersuchen, ob bei diesen sehr unterschiedlichen Bedingungen unterschiedliche Reaktionen auftreten, so daß sowohl die Beobachtung von MAST als auch diejenige von GERISCH unter den jeweils gegebenen Bedingungen richtig ist, oder ob in beiden Fällen eine einheitliche Reaktion erfolgt. Letzteres wäre ebenfalls denkbar, da MAST die Geißeln nicht direkt beobachten konnte; dann müßte allerdings eine neue Erklärung für die von ihm beobachtete Änderung der Teilchenströmung in der Umgebung der wechselnd belichteten Kolonie gefunden werden.

Andererseits ist zu prüfen, wie groß die tatsächlich bei der Rotation auftretenden Intensitätssprünge sind und ob diese Sprünge zu einer phobischen Reaktion der einzelnen Zelle im Sinne von GERISCH ausreichend groß sind; sie dürften nämlich in jedem Fall kleiner sein als die von ihm verwendeten.

Material und Kulturbedingungen

Hauptsächlich wurden die Versuche mit *Volvox aureus* des Stammes L 88-1 aus der Algensammlung des Pflanzenphysiologischen Institutes der Universität Göttingen durchgeführt.

Das Material wurde in Reagensgläsern im Konstantraum bei $+16^{\circ}\text{C}$ und einem Licht-Dunkel-Wechsel von 12 : 12 Std. angezogen. Zur Beleuchtung diente ein Mischlicht aus Leuchtstoffröhren (Philips TL 40W/32; Osram L 40W/25) und Glühlampen. Die Lichtintensität an den Kulturen lag zwischen 1400 und 2000 Lux.

Als Kulturmedium wurde folgende Lösung nach PRINGSHEIM und PRINGSHEIM (1959) verwendet (für je 100 ml Nährlösung):

$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,0018 g
K_2HPO_4	0,0018 g
KNO_3	0,018 g
Hefeextrakt	0,09 g
Bacto-Trypton (Difco)	0,09 g
Spurenelementlösung*	0,2 ml
Erddekokt	5,0 ml

Der Substratwechsel erfolgte alle 30 Tage.

Für einige vergleichende Versuche wurden noch folgende Algen verwendet:

<i>Volvox tertius</i>	Stamm L 88-3
<i>Volvox globator</i>	Stamm L 88-2

ebenfalls aus der Algensammlung des Pflanzenphysiologischen Institutes der Universität Göttingen.

Experimenteller Teil

Allgemeine Versuchsdurchführung und orientierende Beobachtungen

Das Versuchsmaterial wurde in den Anzuchtgläsern durch Beleuchtung schräg von oben angelockt, so daß die phototaktisch reaktionsfähigen Kolonien nach einiger Zeit mit einer Pipette aus dem Meniskus der Flüssigkeit entnommen werden konnten. Anschließend wurden sie vor Versuchsbeginn 10 Minuten bei 16°C im Versuchsgefäß verdunkelt. Als Versuchsgefäß diente eine quadratische Glasküvette von 5×5 cm Grundfläche und 1 cm Randhöhe. Zwei aneinander angrenzende Seiten waren mit Optik-Lack von innen geschwärzt, um Streulicht möglichst auszuschalten. Zur phototaktischen Orientierung der Bewegung dienten zwei im rechten Winkel zueinander aufgestellte 300-W-Projektoren, deren Lichtstrahlen sich in der Mitte der Küvette kreuzten und die mit einem Fußschalter abwechselnd eingeschaltet werden

*) PRINGSHEIM (1963), S. 140.

konnten. Beobachtet und aufgezeichnet wurde mit einem Wild-Mikroskop mit Lupenobjektiv (Gesichtsfelddurchmesser 7,5 mm) und Zeichenansatz.

Die Ausrichtung der Projektoren wurde mit einem weißen Karton vorgenommen, auf dem sich hinter Schlitzblenden zwei senkrecht zueinander verlaufende Striche befanden. Der Kreuzungspunkt der Lichtstrahlen wurde in die Mitte des Gesichtsfeldes des Mikroskopes gebracht, die Lage der Striche auf Zeichenpapier übertragen, und dann der Karton durch die Versuchsküvette ersetzt. Die Lichtintensität am Objekt wurde durch zwischengeschaltete Neutralgraufilter NG 11 auf 1500 Lux eingestellt. Als Beobachtungslicht diente die Mikroskopbeleuchtung mit zwischengeschaltetem OG3-Filter.

Nach Einschalten eines Projektors wurden die Bahnen der auf die Lichtquelle zuschwimmenden Kolonien aufgezeichnet. Wenn eine Kolonie das halbe Gesichtsfeld durchschwommen hatte, wurde die Lichtrichtung gewechselt, der Zeitpunkt des Lichtwechsels wurde auf der Zeichnung gekennzeichnet.

In fast allen Fällen zeigten die Kolonien beim Wechsel der Lichtrichtung eine starke Sperrstellung der Geißeln. Nach Wiederaufnahme der Bewegung erfolgt zunächst eine Fortbewegung in der alten Lichtrichtung, die nach kurzer Zeit (ca. 1 sec) in ein Umschwenken in die neue Lichtrichtung übergeht (Abb. 1). Ein Einschwenken in die neue Lichtrichtung direkt aus dem Stillstand heraus konnte niemals beobachtet werden. Da die Vorwärtsbewegung stets mit einer Rotation verbunden ist, steht dieser Befund

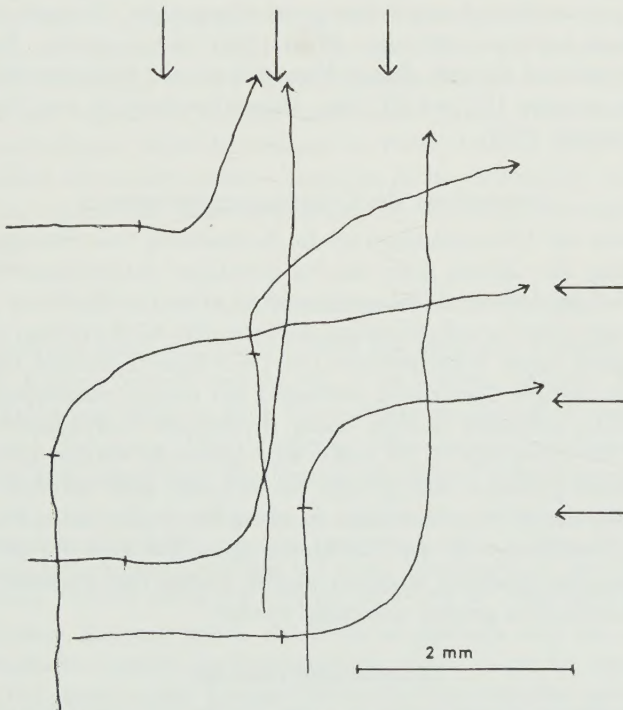


Abb. 1: Verhalten von *Volvox* bei um 90° wechselnder Lichtrichtung. Der Zeitpunkt des Lichtrichtungswechsels ist durch einen Querstrich gekennzeichnet.

mit der eingangs dargestellten Vorstellung in Übereinstimmung, daß für eine Orientierung die Rotation notwendige Voraussetzung ist (unabhängig davon, ob der Ruderbooteffekt nach MAST oder GERISCH erfolgt); anders ausgedrückt: die Perception der Lichtrichtung ist nur während der Bewegung möglich. *Volvox* kann also nicht, wie es NEUSCHELER (1966) für *Micrasterias* fand, eine orientierende Drehung auf der Stelle ausführen.

Die Versuche wurden mit dem gleichen Ergebnis auch mit Lichtrichtungsänderungen von 180° und von 10° durchgeführt, wobei die Ergebnisse bei 10° wegen der Kürze der überschaubaren Strecke von maximal 7,5 mm nicht immer eindeutig waren. Deshalb wurden diese Versuche in der Weise abgeändert, daß eine größere Anzahl von Koloniebahnen bei konstanter Lichtrichtung aufgezeichnet wurden; nach einer Dunkelpause, in der statistische Verteilung der Kolonien im Präparat eintrat, wurde der Versuch mit um 10° veränderter Lichtrichtung wiederholt. Die Auswertung der etwa 90 aufgezeichneten Bewegungsbahnen ergab eine mittlere Winkeldifferenz von $9,75 \pm 1^\circ$. Damit ist erwiesen, daß *Volvox* die Lichtrichtung mit Sicherheit auf 10° genau percipieren kann.

Wenngleich die Änderung der Bewegungsrichtung also sehr exakt der Änderung der Beleuchtungsrichtung entspricht, so ist die absolute Übereinstimmung der Bewegungsrichtung mit der Beleuchtungsrichtung viel weniger gut. Vielmehr tritt stets eine Abweichung nach links auf, die schon MAST (1917) bei *Eudorina*, *Pandorina* und *Volvox* beobachtete und die nach eigenen Versuchen mit der Koloniegröße variiert und im allgemeinen zwischen 10° und 20° liegt, jeweils konstant für eine Population von Kolonien (vgl. HUTH, 1970).

Untersuchung des Orientierungsmechanismus

Ausgangspunkt der Untersuchungen ist die Beobachtung von GERISCH (1959), daß eine Sperrstellung der Geißeln nicht nur bei einmaliger Intensitätserhöhung erfolgt, sondern auch bei wiederholtem Intensitätswechsel etwa im Rhythmus der Kolonierotation (3 : 3 sec). Dabei wurde allerdings die Intensität des Reizlichtes in sehr großen Sprüngen geändert (rotes Sicherheitslicht mit OG3-Filter entspricht für das phototaktische System völliger Dunkelheit, wechselnd mit positiv phototopotaktisch wirksamem Weißlicht); außerdem erfolgte dieser rhythmische Intensitätswechsel bei der Bewegung auf die Lichtquelle zu. Es mußte nun untersucht werden, ob unter den für die Phototopotaxis geltenden Bedingungen bei seitlicher, nicht unterbrochener Belichtung die Rotation der Kolonie tatsächlich zu so starken rhythmischen Intensitätsänderungen an den Photoreceptoren der Einzelzellen führt, daß diese auf der Lichtseite zu einer photophobischen Reaktion veranlaßt werden. Hierzu muß zunächst die phobische Reaktion der Einzelzellen genauer untersucht werden.

Die phobische Reaktion

Das zu untersuchende Material wurde in einem Tropfen auf einen Objektträger gebracht. Das Deckglas wurde durch zwei Deckgläser an den Seiten so abgestützt, daß die Hauptmenge der Kolonien festgelegt wurde, ohne allzu stark deformiert zu werden. Durch zu starkes Quet-

schen der Kolonien wird eine Ruhestellung der Geißeln hervorgerufen, die allerdings von der phobischen Sperrstellung deutlich unterschieden ist (GERISCH, 1959).

Das so präparierte Material wurde vor Versuchsbeginn in einer feuchten Kammer 10 min bei $+16^{\circ}\text{C}$ verdunkelt. Anschließend wurden die Algen mit dem Phasenkontrastmikroskop beobachtet. Als Beobachtungslicht diente die Mikroskopbeleuchtung mit zwischengeschaltetem OG3-Filter. Zur phobischen Reizung wurde das Filter aus dem Strahlengang entfernt und dabei die Randzellen der Kolonie im optischen Schnitt betrachtet. Hierzu wurden nur Kolonien verwendet, die genau von der Seite beobachtet werden konnten, d. h. Kolonien, die sich bei freier Bewegungsmöglichkeit in der Ebene des Deckglases fortbewegt hätten.

Die Dauer der Sperrstellung vom Einschalten des Reizlichtes bis zur vollständigen Wiederaufnahme des Geißelschlages wurde gemessen. Die Wiederaufnahme der Geißelbewegung erfolgt häufig erst nach einigen «Anläufen», bei denen nach einem oder zwei Geißelschlägen kurzfristig wieder die charakteristische Sperrstellung eingenommen wird (siehe auch GERISCH, 1959). Bei der Messung der Dauer der Sperrstellung wurde diese Zeit mitgemessen. Je Kolonie wurden 15–20 Einzelmessungen innerhalb 5 Minuten vorgenommen, ehe das Objekt gewechselt wurde. Dies ist möglich, weil die Zellen sehr kurze Erholungszeiten zeigen. Die durch die Rotation hervorgerufenen Intensitätswechsel folgen im übrigen noch schneller aufeinander. Lediglich die erste Messung an jeder Kolonie zeigt, offenbar bedingt durch die vorausgegangene längere Dunkelzeit, eine starke Abweichung zu längeren Werten hin; sie wurde deswegen in allen Versuchen verworfen.

Bei diesen Versuchen traten starke Unterschiede der Dauer der Sperrstellung innerhalb einer Kolonie auf. Die Sperrstellung der Zellen des vegetativen Poles (Vorderende) war bis zu doppelt so lang wie die der Zellen des generativen Poles (s. a. GERISCH, 1959). Deswegen wurden für die folgenden Versuche nur die Zellen gemessen, die zwischen dem vegetativen Pol und dem Äquator lagen. Ausgenommen wurden die Zellen in unmittelbarer Nähe des vegetativen Poles, da sie in Reaktion und Geißelschlag gegenüber den weiter entfernt liegenden Zellen Anomalien zeigten. Mit dieser Einschränkung ergeben sich dann reproduzierbare Werte, die Sperrstellung beträgt im Mittel 5,4 sec.

Gibt es eine «Reizleitung» innerhalb der Kolonie?

Wenn die Orientierung von *Volvox* durch die phobische Reaktion der Einzelzelle in Teilen der Kolonie bewirkt werden soll, ist zu fordern, daß eine Weiterleitung des phobischen Reizes von Zelle zu Zelle über größere Strecken nicht stattfindet. Die von DOLZMANN und DOLZMANN (1964) aufgrund elektronenmikroskopischer Untersuchungen diskutierte Möglichkeit einer Reizleitung steht dieser Forderung entgegen.

Um diese Frage eindeutig zu entscheiden, wurde die beim vorhergehenden Versuch beschriebene Versuchsanordnung gewählt, mit dem Unterschied, daß die Ebene des über der Mikroskopbeleuchtung befindlichen OG3-Filters mit einem Linsensystem in der Objektebene scharf abgebildet wurde. Dadurch wurde eine teilweise Belichtung der festgelegten Kolonien möglich.

Zur phobischen Reizung wurde das Filter so entfernt, daß nur eine Hälfte der Kolonie «Weißlicht» bekam. Als Trennungslinie wurde wegen der vom sensitiven zum generativen Pol abnehmenden Empfindlichkeit die Rotationsachse gewählt. Die Zellen der belichteten Koloniehälfte reagierten in allen Fällen mit einer Sperrstellung, während der Geißelschlag auf der nicht gereizten Seite normal war.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde das Filter ganz entfernt und nach 1 sec bis zur Mittellinie der Kolonie wieder zurückgeschoben. Dabei zeigte sich, daß die Sperrstellung der Geißeln durch Löschung des Reizes in einer Koloniehälfte aufgehoben werden kann, während die Zellen der weiterhin «belichteten» Koloniehälfte über die schon vorher beschriebene Zeit die Sperrstellung beibehalten. Die Wiederaufnahme des Geißelschlages nach Aufhebung des Reizes erfolgt ohne die vorher beschriebenen «Anläufe» (s. a. GERISCH, 1959).

Diese Versuche zeigen, daß eine Reizleitung von Zelle zu Zelle offenbar nicht stattfindet oder nur in einem außerordentlich eng begrenzten Bereich möglich ist, der sich der Beobachtung entzieht.

Auch der später (S. 446) beschriebene Versuch mit abwechselnder Belichtung aus entgegengesetzten Richtungen bestätigt, daß nicht mit Komplikationen durch Reizleitung gerechnet werden muß. Diese Tatsache ist bei *Volvox* eine wichtige Voraussetzung für das Funktionieren jedes Orientierungsmechanismus nach dem «Ruderboot-Prinzip».

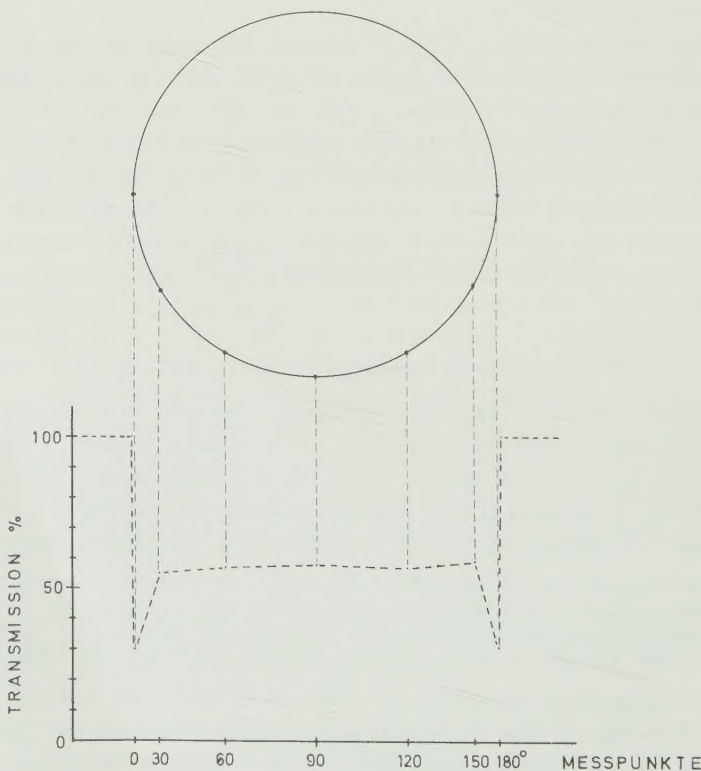


Abb. 2: Lichtdurchlässigkeit einer *Volvox*-Kolonie bei 490 nm und Lage der Meßpunkte auf dem Umfang der Kolonie.

Die Lichtdurchlässigkeit ganzer Kolonien im blaugrünen Licht

Wenn bei seitlicher Belichtung die periodische Intensitätserhöhung infolge der Rotation zu phobischen Reaktionen und damit zur Orientierung nach dem «Ruderboot-Prinzip» führen soll, so ist zu fordern, daß die Beschattung der Einzelzelle bzw. des Photorezeptors der Zelle durch die restliche Kolonie ein Ausmaß erreicht, das für eine solche Reaktion notwendig ist. Im folgenden wird zunächst untersucht, welches Ausmaß die Lichtschwächung erreicht, d. h. es wird die Lichtdurchlässigkeit der Kolonie in verschiedenen Regionen ermittelt.

Die Messungen erfolgten mit einem Mikro-Spektro-Photometer in Verbindung mit dem Labolux (Leitz) im blaugrünen Licht (490 nm), d. h. im Maximum des phototaktischen Wirkungsspektrums (LUNTZ, 1931).

Die zu untersuchenden Kolonien wurden unter einem abgestützten Deckglas festgelegt. Mit dem kleinsten Meßfleck (Durchmesser 10 μ), dessen Größe etwa dem Durchmesser einer Zelle entspricht, wurde nun die Lichtabsorption im Vergleich zum Medium gemessen. Die Meßpunkte lagen auf einer Linie senkrecht zur Rotationsachse in der Äquatorialebene der Kolonie, und zwar im Abstand 1,0; 0,87; 0,5; 0 Radien von der Rotationsachse entfernt (siehe Abb. 2); dies entspricht auf den Umfang der Kugel bezogen einem Abstand der Meßpunkte von 30°. Die Abstände wurden, wenn nötig, geringfügig (bis zu 20 μ) geändert, so daß immer durch eine Zelle gemessen werden konnte.

Die Kurve, die sich bei diesen Messungen ergab, zeigt Abb. 2. Sie weist zwei deutliche Minima an den Kolonierändern mit Transmission von etwa 30 % und ein recht gleichmäßiges Plateau mit 60 % Transmission dazwischen auf. Wenn eine rotierende Kolonie genau von der Seite senkrecht zur Rotationsachse belichtet wird, muß also ein großer Teil der Zellen während einer halben Umdrehung auf der Schattenseite diese Intensitätssprünge mitmachen.

Dauer der Sperrstellung der Geißeln bei verschieden großen Intensitätsänderungen

Es mußte nun untersucht werden, ob die im vorhergehenden Versuch gefundenen Intensitätssprünge zur Auslösung einer Sperrstellung der Geißeln ausreichend sind.

Die *Volvox*-Kolonien wurden mit einem abgestützten Deckglas festgelegt und vor Versuchsbeginn 10 min in einer feuchten Kammer bei + 16° C verdunkelt. Im Phasenkontrastmikroskop wurden bei Rotlicht geeignet liegende Kolonien (s. S. 441) ausgesucht. Zur phobischen Reizung wurde das OG3-Filter aus dem Strahlengang entfernt und die Dauer der Sperrstellung gemessen. Die Messungen erfolgten zehnmal innerhalb von 5 min. Nach einer Pause von 1 min bei Rotlicht wurde das Rotfilter durch ein Neutralgraufilter*) mit 10 % Durchlässigkeit ersetzt. Sobald die hierdurch hervorgerufene Sperrstellung abgeklungen war, konnte die Kolonie durch

*) Transmission der Neutralgraufilter bei 490 nm

Bezeichnet:	gemessen bei 490 nm:
10 %	9,5 %
20 %	18,5 %
30 %	30,5 %
50 %	47,0 %
60 %	58,5 %

Entfernen des Neutralgraufilters erneut phobisch gereizt und die Dauer der Sperrstellung gemessen werden. Nach zehn Messungen wurde wieder eine Pause von 1 min bei Rotlicht eingelegt und anschließend in gleicher Weise mit Neutralgraufiltern von 20 %, 30 %, 50 % und 60 % Durchlässigkeit verfahren. Die ganze Intensitätsskala wurde mit derselben Kolonie gemessen. Zur Kontrolle wurde die Reihenfolge der Intensitätssprünge laufend variiert. Als weitere Kontrolle wurde zu Beginn und Schluß jeder Versuchsreihe an derselben Kolonie die Dauer der Sperrstellung bei Wechsel von Rotlicht auf volles «Weißlicht» (0 %–100 %) gemessen.

Als Ergebnis zeigt Abb. 3, daß mit abnehmender Größe der Intensitätssprünge die Dauer der Sperrstellung abnimmt; bei dem kleinsten hier verwendeten Intensitätssprung von 60 auf 100 % dauert die Sperrstellung etwa 2 Sekunden. Weiterhin geht aus diesen Ergebnissen hervor, daß theoretisch eine Sperrstellungsreaktion an zwei Positionen der Kurve in Abb. 2 möglich sein sollte: einmal beim Sprung von 30 %



Abb. 3: Unterschiedliche Dauer der Sperrstellung bei verschiedenen großen Intensitätsänderungen, die in Prozentwerten auf der Abszisse angegeben sind.

auf 60 %, also in dem Augenblick, in dem die Zelle vom Rand der belichteten Koloniehälfte auf die lichtabgewendete Seite wandert, und zweitens beim Sprung von 30 % auf 100 %, wenn die Zelle von der lichtabgewendeten Seite über den Rand auf die belichtete Kolonieseite zurückkehrt. Wir hätten dann also Sperrstellung auf Licht-

und Schattenseite der Kolonie. Es ist einleuchtend, daß bei dieser Verhaltensweise eine Orientierung nach dem zuvor erläuterten Ruderboot-Prinzip nicht möglich wäre. Es ist also zu fordern, daß nur beim Eintritt der Zellen in die Lichtseite der Kolonie eine Sperrstellung eintritt, oder daß diese wesentlich stärker als diejenige auf der Schattenseite ist.

Werden Kolonien, die mit ihrem vegetativen Pol am Deckglas anstoßen und dabei auf der Stelle rotieren (Rotationsachse senkrecht zur Ebene des Deckglases) im Phasenkontrastmikroskop beobachtet, so zeigen bei seitlicher Belichtung nur die Geißeln der auf die Lichtseite wandernden Zellen eine Sperrstellung. Warum tritt die theoretisch denkbare Sperrstellung auf der Schattenseite nicht auf?

Nachbildung des zeitlichen Ablaufs der Intensitätswechsel an der Einzelzelle bei Rotation und seitlicher Belichtung

Das Ergebnis der Messungen aus dem vorigen Kapitel ermöglicht es uns, den Intensitätswechsel nachzubilden, dem die Einzelzelle infolge Rotation der Kolonie bei seitlicher Belichtung unterliegt.

Bei diesen Versuchen wurde die beim vorhergehenden Versuch beschriebene Versuchsanordnung verwendet. Über der Mikroskopbeleuchtung war ein Schieber mit auswechselbaren Neutralgraufiltern angebracht, der nach den Schlägen eines Metronoms verschoben wurde. Betrachtet wurden die Randzellen der vorderen Koloniehälfte im optischen Schnitt. Als mittlere Rotationsdauer wurden 8 sec zugrunde gelegt.

Als erstes wurde der Wechsel 100 % – 30 % – 60 % untersucht, entsprechend dem Übergang der Zellen von der Lichtseite zur Schattenseite. Dazu wurde die Kolonie 4 sec lang mit der vollen Mikroskopbeleuchtung belichtet, dann für 1 sec auf 30 % abgedunkelt und danach die Intensität auf 60 % erhöht. Dabei ergab sich keine Reaktion. Zur Kontrolle wurde nach 3 sec bei 60 % die Intensität auf 100 % erhöht. Jetzt reagierten die Zellen eindeutig mit einer Sperrstellung der Geißeln. Als weitere Kontrolle wurde die Verdunkelungszeit auf 30 % schrittweise verlängert. Das Ergebnis zeigt die Tabelle:

	100 %	30 %	60 %	Sperrstellung
	4	1	3	—
	4	2	3	—
Belichtungszeit	4	3	3	—
in sec	4	4	3	—
	4	5	3	schwach
	4	6	3	deutlich

Dieser Befund zeigt also, daß die einer Zelle normalerweise zur Verfügung stehende Adaptationszeit bei 30 % bei weitem nicht ausreicht, um anschließend bei Intensitätserhöhung eine Sperrstellung zu ermöglichen. Die Zelle «merkt» offensichtlich die kurze Verdunkelung gar nicht. Es kann also beim Übergang einer Zelle vom Rand zur lichtabgewandten Seite und der damit verbundenen Intensitätserhöhung keine Sperrstellung auftreten.

Nun wurde die zweite Möglichkeit untersucht, nämlich der Wechsel 60 % – 30 % – 100 %, der beim Wiedereintritt einer Zelle von der Schattenseite der Kolonie in die Lichtseite auftritt. Die erste Kontrolle zum vorhergehenden Versuch hatte bereits gezeigt, daß nach Lichtschwächung auf 60 % für nur 3 Sekunden eine Wiedererhöhung der Intensität auf 100 % zu Sperrstellung führt. Nun wurde 3 sec mit 60 % belichtet, 1 sec mit 30 % und dann 4 sec mit 100 %. Die Intensitätserhöhung führte stets zu Sperrstellung. Dieser Turnus wurde mit demselben Versuchsobjekt zehnmal wiederholt, wobei die Sperrstellung beim Zurückwechseln auf 60 % jedesmal wieder gelöscht wurde (s. a. GERISCH, 1959). Die Löschung der Sperrstellung bei Intensitätserniedrigung ist wichtig für den Orientierungsmechanismus.

Wegen der schon vorher gefundenen Tatsache, daß eine Zelle eine gewisse Adaptationszeit braucht und deswegen die kurze Verdunkelung auf 30 % gar nicht «merkt», wurde noch eine dritte Möglichkeit untersucht, nämlich der direkte Wechsel der Lichtintensität von 60 % auf 100 %. Dazu wurde 4 sec mit der Intensität 60 % und anschließend 4 sec mit 100 % belichtet. Der Turnus wurde bis zu zehnmal mit demselben Objekt wiederholt. Das Ergebnis gleicht demjenigen des vorhergehenden Versuches, beim Wechsel auf volle Intensität tritt Sperrstellung ein. Dieser Versuch beweist, daß die Zelle die kurze Verdunkelung auf 30 % zur phobischen Reaktion nicht benötigt.

Als Ergebnis kann festgehalten werden, daß Rotationsdauer, Adaptationszeit und Größe der Schattenwirkung so aufeinander abgestimmt sind, daß bei einseitiger Belichtung die Voraussetzung zum «Ruderboot-Prinzip» auftreten muß: Sperrstellung auf der Lichtseite, ungestörte Geißelaktivität auf der Schattenseite.

Versuche mit wechselnder seitlicher Belichtung an festgelegten Kolonien

Das Ergebnis des vorigen Abschnittes kann noch auf anderem Wege bestätigt werden, indem bei festliegender Kolonie das Licht abwechselnd von entgegengesetzten Seiten geboten wird. Die einzelne Zelle erhält dabei volle Lichtintensität im Wechsel mit Licht, das durch die Zellen der Kolonie geschwächt ist; das entspricht den Verhältnissen bei Rotation im einseitigen Licht.

Das mit Deckglasstückchen an den vier Ecken abgestützte Deckglas war ebenso wie der Objektträger an den Kanten geschwärzt, um Streulicht weitgehend auszuschalten. Die abwechselnde Belichtung mit 2 Projektoren erfolgte nach der auf S. 438 beschriebenen Methode, das Licht fiel jedoch mit einer Neigung von 3–5° schräg von oben auf den Objektträger. Der Objektträger wurde unter dem Mikroskop so ausgerichtet, daß das Licht der Projektoren die gerade beobachtete Kolonie genau senkrecht zur Rotationsachse traf. Beobachtet wurden die Algen wieder im roten Sicherheitslicht (OG3-Filter).

Die Projektoren wurden nun abwechselnd im Rhythmus 3 : 3 sec eingeschaltet. Dabei wurden die Randzellen im optischen Schnitt betrachtet. Beim allerersten Einschalten eines Projektors reagierten alle Zellen, wie zu erwarten, mit einer Sperrstellung der Geißeln (Abb. 4, 1), die beim Wechsel auf die entgegengesetzte Lichtrichtung auf der nunmehr lichtabgewandten Seite gelöscht wurde (Abb. 4, 2). Beim Wechsel zurück zur ersten Lichtrichtung wurde auf der jetzt wieder lichtzugewandten Seite Sperrstellung ausgelöst, während die Sperrstellung auf der abgewandten Seite gelöscht wurde.

(Abb. 4, 3). Dieser Lichtwechsel konnte an derselben Kolonie bis zu zwanzigmal durchgeführt werden. Der Wechsel der Lichtrichtung erfolgte jeweils nach 3 sec, um einer selbsttätigen Beendigung der Sperrstellung zuvorzukommen.

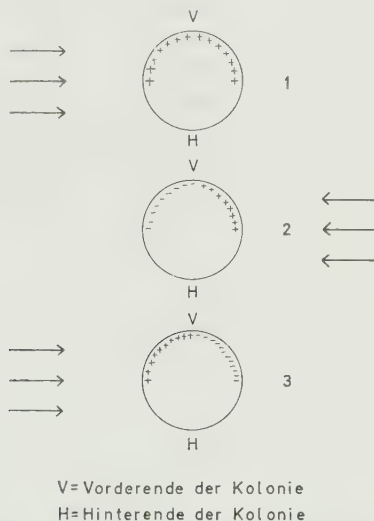


Abb. 4: Sperrstellung der Geißeln von *Volvox* bei wechselnder seitlicher Belichtung. + = Sperrstellung; — = keine Sperrstellung. Im übrigen siehe Text.

Beobachtung der Geißeln während der Orientierungsbewegung der Kolonie

Abschließend wurde versucht, die Sperrstellung der Geißeln der lichtzugewandten Kolonieseite direkt bei der Orientierungsbewegung zu beobachten.

Die Algen wurden dazu in einem Tropfen auf einen Objektträger gebracht und das Deckglas an den Ecken so abgestützt, daß die Kolonien mit etwas Spielraum frei schwimmen konnten. Beobachtet wurde mit einem Wild-Mikroskop mit Phasenkontrasteinrichtung und leicht beweglichem Kreuztisch. Mit Hilfe dieses Kreuztisches wurden die Algen bei ihrer Bewegung verfolgt und während der Beobachtung die Lichtrichtung gewechselt. Dabei zeigen die Zellen der dem Licht zugewendeten Kolonieseite Sperrstellung, während die Geißeln der anderen Seite normal schlagen. Der Sperrstellung folgt unmittelbar eine Richtungsänderung nach der Seite hin, auf der die Sperrstellung stattgefunden hat.

Diskussion

Die eingangs gestellte Frage, ob bei Intensitätsänderungen die Schlagrichtung der Geißel modifiziert wird (MAST) oder ob es zu Sperrstellungen kommt (GERISCH), konnte eindeutig im Sinne der zweiten Alternative entschieden werden. Es gibt aus den hier beschriebenen Versuchen keinen Hinweis darauf, daß unter verschiedenen Bedin-

gungen der eine *oder* der andere Mechanismus wirksam wird, obwohl Größe und Dauer der Intensitätswechsel vielfältig variiert wurden.

Wie sind mit diesem Ergebnis die Angaben von MAST in Einklang zu bringen, der die Änderung der Schlagrichtung daraus schloß, daß er an festliegenden Kolonien bei Änderung der Lichtrichtung von vorn nach der Seite eine Änderung der Teilchenströme entlang der Kolonie beobachtete?

Nach den vorliegenden Ergebnissen kann diese Strömungsänderung folgendermaßen erklärt werden: Durch wechselnde seitliche Belichtung wird in Teilen der Kolonie eine Sperrstellung ausgelöst (s. S. 447). Bei gleichzeitigem Weiterschlagen der Geißeln der übrigen Zellen muß eine Umlenkung der Teilchenströmung stattfinden. Auch die Rückwendung in die alte Strömungsrichtung, die MAST dabei beobachtete, obwohl er die seitliche Belichtung aufrecht erhielt, läßt sich nach diesem Modell erklären; die durch Wechsel der Lichtrichtung ausgelöste Sperrstellung dauert nämlich nur einige Sekunden, auch wenn die Lichtrichtung dann konstant bleibt. Wenn in den Versuchen von MAST die Dauer der Teilchenumlenkung im Durchschnitt etwas kürzer war als in unseren entsprechenden Versuchen die Dauer der Sperrstellung, so läßt sich dies leicht damit erklären, daß hier die Lichtrichtung um 180° , bei MAST nur um 90° geändert wurde. Entsprechend ist der Intensitätssprung bei MAST geringer, und nach Abb. 3 ist die Dauer der Sperrstellung eine Funktion der Größe des Intensitätssprunges.

Zur Orientierung der Kolonie ist die Rotation notwendig, wie die Versuche mit wechselnder Lichtrichtung gezeigt haben. Nach dem durch den Lichtrichtungswechsel ausgelösten Stillstand bewegt sich die Kolonie zuerst noch ein kleines Stück in der alten Richtung, ehe das Einschwenken in die neue Lichtrichtung beginnt (s. Abb. 1). Während dieser Zeit vor dem Einschwenken werden die Zellen durch wechselnde Beschattung phobisch gereizt. Die Messungen zeigen, daß die bei der Rotation auftretenden Intensitätssprünge hinreichend groß sind, um eine Sperrstellung der Geißeln der auf die Lichtseite der Kolonie wandernden Zellen auszulösen. Andererseits wird die theoretisch denkbare Sperrstellung der Geißeln beim Austritt der Zellen aus dem dunkleren Randschatten in die hellere Rückfront nicht ausgelöst. Dies konnte durch Versuche gezeigt werden, in denen der zeitliche Ablauf der Intensitätswechsel während der Rotation nachgebildet wurde.

Die Sperrstellung der Geißeln auf der Lichtseite führt zu einem einseitigen Abbremsen der Kolonie und damit zu einem Hinwenden zur Lichtquelle. Die beim Eintritt in die Lichtseite der Kolonie ausgelöste Sperrstellung wird beim Eintritt in die Schattenseite sofort wieder gelöscht. Dies zeigen schon die Versuche von GERISCH (1959). Die gleiche Beobachtung wurde außerdem bei den Versuchen, bei denen der zeitliche Ablauf der Intensitätswechsel an festgelegten Kolonien nachgebildet wurde, gemacht. Eine Weiterleitung des phobischen Reizes, die diesen Orientierungsmechanismus stören würde, und die auf Grund anatomischer Befunde angenommen wurde (DOLZMANN und DOLZMANN, 1964), findet nicht statt, wie die Versuche auf S. 441—442 zeigen.

Die gemessenen Intensitätssprünge der Kurve in Abb. 2 gelten streng genommen nur für die Zellen des mittleren Koloniedrittels und für seitliche Belichtung senkrecht

zur Rotationsachse. *Volvox* vermag aber, wie die Versuche gezeigt haben, auch Licht- richtungsänderungen von nur 10° zu perzipieren. Die Orientierung geschieht dann allerdings wesentlich langsamer als bei größeren Winkeln, was darauf hindeutet, daß hierbei wohl nur sehr wenige Zellen in der angegebenen Weise phobisch reagieren. An Hand des in Abb. 5 dargestellten Modells kann man erkennen, daß es auch in diesem

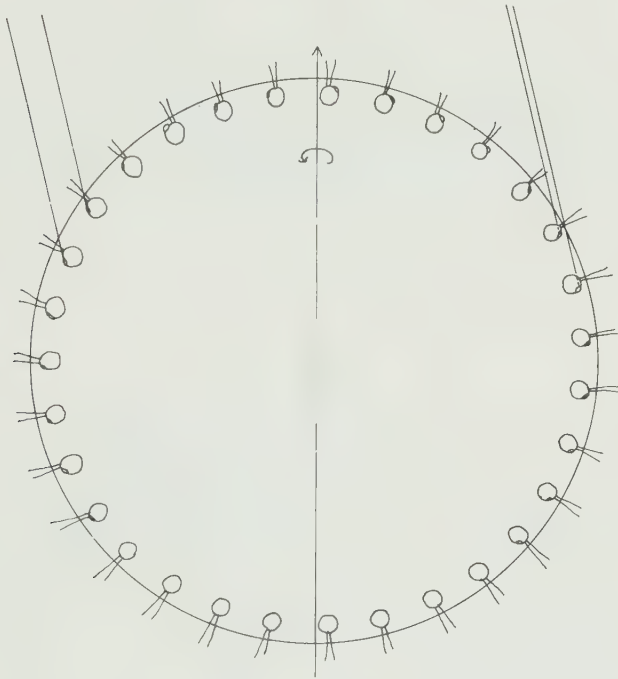


Abb. 5: Durch die Rotation hervorgerufene unterschiedliche Belichtung des Photorezeptors einzelner Zellen des Vorderendes bei Belichtung 10° seitlich zur Rotationsachse. In den Zellen ist das Stigma gekennzeichnet. Vorderende = oben.

Fall noch eine Zone in der Vorderhälfte der Kolonie gibt, in der die Zellen wechselnden Intensitäten ausgesetzt sind. Reichen diese Intensitätswechsel noch aus, zumal die Verdunkelungszeit dieser Zellen kürzer ist als für die Zellen des mittleren Koloniedrittels? Nehmen wir an, daß der Photoreceptor auch bei *Volvox* in der Plasmamembran in der Nähe des Stigmas zu suchen ist, wie es WALNE und ARNOTT (1967) für *Chlamydomonas* fordern, dann wird dieser Photoreceptor zunächst bei der Rotation durch die benachbarten Zellen beschattet – die Lichtdurchlässigkeit von einzelnen *Volvox*-Zellen beträgt bei 490 nm rund 70 % –; darüber hinaus müßte aber auch eine wenigstens partielle Beschattung des Photorezeptors durch das eigene Stigma erfolgen. Unter diesen Voraussetzungen wäre also selbst bei nur 10° Differenz zwischen Licht-

richtung und Bewegungsrichtung eine Orientierung nach dem hier nachgewiesenen Mechanismus möglich.

An frei beweglichen und sich orientierenden Kolonien konnte die Sperrstellung auf der Lichtseite bei Richtungsänderung um 90° direkt beobachtet werden; bei 10° steht diese Beobachtung wegen technischer Schwierigkeiten noch aus.

Volvox bewegt sich nicht parallel zur Richtung der Lichtstrahlen auf die Lichtquelle zu, sondern weicht mehr oder weniger stark nach links von der Lichtrichtung ab (MAST, 1917). Die gleiche Linksabweichung findet sich auch bei der negativen Phototaxis (vgl. HUTH, 1970). Dieses Verhalten führt zu fortwährender phobischer Reizung einzelner Zellen und damit zur Tendenz, diese Abweichung auszugleichen. Die Fähigkeit zur Perzeption auch relativ geringer Lichtrichtungsänderungen wird dadurch nicht beeinträchtigt. Man könnte im Gegenteil annehmen, daß die dauernde phobische Reizung einzelner Zellen zu einer präziseren (wenngleich nicht ganz korrekten) Orientierung führt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. W. HAUPT, danke ich für sein Interesse und die Anregungen im Laufe dieser Arbeit.

Literatur

- DOLZMANN, R., und P. DOLZMANN: Untersuchungen über die Feinstruktur und die Funktion der Plasmodesmen von *Volvox aureus* L. *Planta* 61, 332–346 (1964).
- GERISCH, G.: Die Zelldifferenzierung bei *Pleodorina californica* SHAW und die Organisation der Phytomonadenkolonien. *Arch. f. Protistenkunde* 104, 292–358 (1959).
- HUTH, K.: Richtungsabweichung bei taktischen Reaktionen bei *Volvox* (1970). In Vorbereitung.
- LUNTZ, A.: Untersuchungen über die Phototaxis I. Die absoluten Schwellenwerte und die relative Wirksamkeit von Spektralfarben bei grünen und farblosen Einzelligen. *Z. vergl. Physiol.* 14, 68–92 (1931).
- MAST, S. O.: The relation between spectral colour and stimulation in the lower organisms. *J. Exper. Zool.* 22, 472–528 (1917).
- Reactions to light in *Volvox*, with special reference to the process of orientation. *Z. vergl. Physiol.* 4, 637–685 (1926).
- NEUSCHELER, W.: Bewegung und Orientierung bei *Micrasterias denticulata* BRÉB. im Licht. *Z. Pflanzenphysiol.* 57, 46–59 (1966).
- PRINGSHEIM, E. G.: Chlorophyllarme Algen I. *Chlamydomonas pallens* nov. spec. Kleine Mitteilungen über Flagellaten und Algen VIII. *Arch. Mikrobiol.* 45, 136–144 (1963).
- PRINGSHEIM, E. G. und O. PRINGSHEIM: Die Ernährung koloniebildender Volvocales. *Biol. Zentralbl.* 78, 937–971 (1959).
- WALNE, P. L., und H. J. ARNOTT: The comparative ultrastructure and possible function of eyespots: *Euglena granulata* und *Chlamydomonas eugametos*. *Planta* 77, 325–353 (1967).

Dr. KLAUS HUTH, Institut für Meeresforschung, 285 Bremerhaven/G., Am Handelshafen 12.

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg

Bewegung und Orientierung bei *Volvox aureus* Ehrb.*)

II. Richtungsabweichung bei taktischen Reaktionen

KLAUS HUTH

Mit 6 Abbildungen

Eingegangen am 1. Mai 1970

*) Zweiter Teil einer Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg.

Summary

Movement and orientation of *Volvox aureus*

II. Angle difference between direction of orienting stimulus and direction of movement

Colonies of *Volvox* which are oriented phototactically, do not move precisely to the light source but deviate always to the left. This deviation eventually amounts to 60° .

The size of the deviation is independent of the light intensity in the range of 10 to 10 000 Lux, but it depends strongly on the relative speed of the movement, i. e. translation movement relative to rotation. The faster this relative speed, the lower the deviation.

In galvanotaxis the same results have been obtained as in phototaxis.

From all observations it is concluded that the deviation is not peculiar to light orientation and hence not due to the photoreceptor system, but that it is connected with the mechanism of movement, viz. caused by the rotation during movement in a pure physical way.

Accordingly, colonies which move without being oriented by an external stimulus, move along lefthand bended curves.

Therefore, the straight lines in tactic responses, which are obliquely to the stimulus, are the result of simultaneous action of orienting stimulus and physical deviation.

Zusammenfassung

Die Linksabweichung von *Volvox* bei topotaktischer Orientierung ist physikalisch bedingt durch die Vorwärtsbewegung im Medium bei gleichzeitiger Rotation. Sie tritt bei der Galvanotaxis in gleicher Weise wie bei der Phototaxis auf. Die dabei beobachteten geraden Bahnen stellen eine Resultante aus topotaktischer Orientierung und physikalisch bedingter Ablenkung dar.

Einleitung

Bei der Aufzeichnung der Orientierungsbewegungen von *Volvox* (HUTH, 1970) traten Divergenzen zwischen der Bewegungsrichtung der Kolonien und der Richtung zur Lichtquelle auf. MAST (1917) erwähnt ebenfalls eine solche Abweichung für *Volvox*, *Eudorina* und *Pandorina*. Das widerspricht dem phototopotaktischen Verhalten anderer Organismen.

Im folgenden soll nun versucht werden, die Ursache dieser Richtungsabweichung aufzudecken. Insbesondere erhebt sich die Frage, ob dieses Phänomen an Besonderheiten des Perzeptionssystems oder des Bewegungsmechanismus gebunden ist. Hierzu soll die Richtung und die Größe der Abweichung unter dem Einfluß verschiedener Faktoren bestimmt werden. Ferner ist die Frage von Bedeutung, ob die Abweichung auf die Phototaxis beschränkt ist oder auch bei anderen topotaktischen Orientierungen beobachtet werden kann.

Material und Kulturbedingungen

In erster Linie wurden die Versuche mit *Volvox aureus* durchgeführt. Für vergleichende Versuche dienten einige weitere Volvocales. Folgende Kulturen aus der Algensammlung des Pflanzenphysiologischen Institutes Göttingen wurden verwendet:

<i>Volvox aureus</i>	Stamm L 88-1
<i>Volvox globator</i>	Stamm L 88-2
<i>Volvox tertius</i>	Stamm L 88-3
<i>Eudorina elegans</i>	Stamm 24-1 a
<i>Pandorina morum</i>	Stamm 60-1 a
<i>Gonium sociale</i>	Stamm 32-2 a

Die Algen wurden im Konstantraum bei 16°C und einem Licht-Dunkel-Wechsel von 12 : 12 Stunden kultiviert. Ein Mischlicht aus Leuchtstoffröhren und Glühlampen (1500 bis 2000 Lux) diente zur Beleuchtung.

Als Kulturmedium wurde folgende Lösung nach PRINGSHEIM (1959) verwendet:

MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,002 %
K ₂ HPO ₄	0,002 %
KNO ₃	0,02 %
Spurenelementlösung*)	0,2 %
Erddekokt	5 %

Für *V. aureus* wurden je 0,09 % Hefeextrakt und Bacto-Trypton (Difco), für *V. globator* und *V. tertius* außer den beiden vorgenannten Stoffen noch je 0,09 % Fleischextrakt und Natriumacetat zugesetzt. Für *Eudorina*, *Pandorina* und *Gonium* waren keine Zusätze nötig.

Allgemeine Methodik

Die phototaktisch reaktionsfähigen Kolonien wurden mit einer Pipette aus den Kulturgläsern entnommen und anschließend vor Versuchsbeginn 10 Minuten bei 16°C im Versuchsgefäß verdunkelt. Als Versuchsgefäß diente eine quadratische Glasküvette 5 × 5 cm, bei der drei Seiten von innen geschwärzt waren. Die Küvette wurde mit einem 300-Watt-Projektor seitlich belichtet, die Beleuchtungsstärke betrug, soweit nicht anders vermerkt, 1500 Lux. Beobachtet und aufgezeichnet wurde mit einem Wild-Mikroskop mit Lupenobjektiv (Gesichtsfelddurchmesser 7,5 mm) und Zeichenansatz. Zum Schutz vor Streulicht war der Objektrevolver mit schwarzem Karton verkleidet und der Objektstisch bis auf die Lichtseite ebenfalls. Die genaue Lichtrichtung wurde mit einer Schlitzblende bestimmt und auf dem Zeichenpapier markiert (HUTH, 1970). Um mögliche Fehlerquellen auszuschalten, wurde nach jedem Versuch die Küvette um 180° gedreht und das phototaktisch wirksame Weißlicht aus der entgegengesetzten Richtung gegeben. Zur Beobachtung der Kolonien diente die Mikroskopbeleuchtung mit zwischengeschaltetem OG3-Filter.

*) Nach PRINGSHEIM (1963).

Die Bahnen der zum Licht hinwandernden Kolonien wurden mitgezeichnet (Abb. 1) und nach dem Versuch der Winkel zur vorher bestimmten Lichtrichtung gemessen.

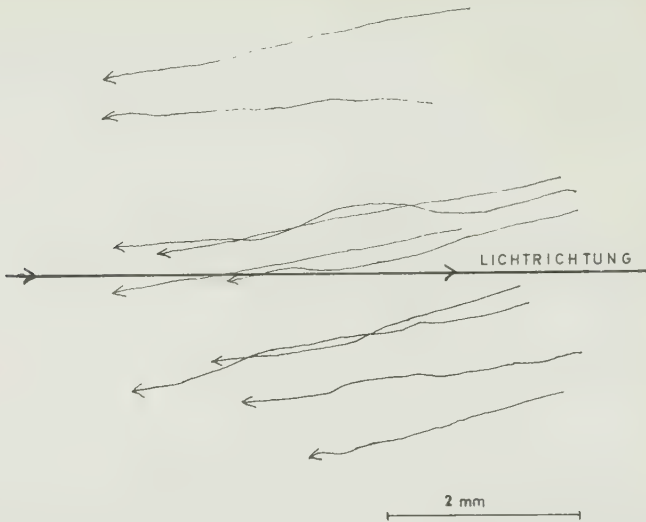


Abb. 1: Bewegungsbahnen von *Volvox aureus* bei phototaktischer Orientierung.

Versuchsergebnisse und Diskussion

Phototaxis

Phototaktisch gut reagierende Kolonien zeigen geradlinige Bahnen. Die Bewegungsrichtung weicht grundsätzlich nach links ab, die Abweichung ist aber für die ver-

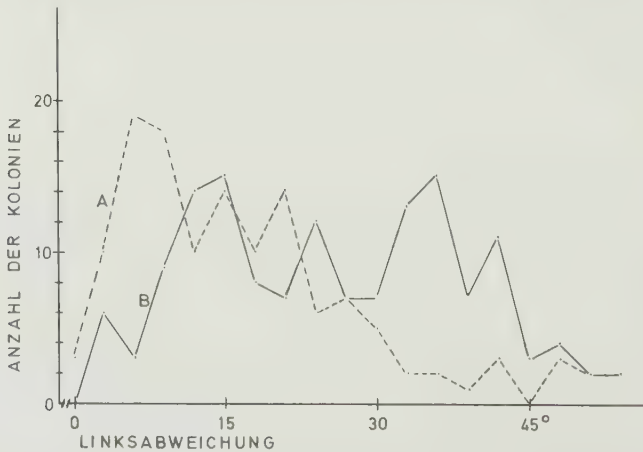


Abb. 2: Häufigkeitsverteilung der Abweichungswinkel gegenüber der Lichtrichtung. A: *V. aureus*, einheitliches Material, B: *V. aureus*, neun verschiedene Kulturen.

schiedenen Kolonien sehr unterschiedlich und streut im Extrem zwischen 0° und 60° . Messungen mit einheitlichem Material aus einer Kultur zeigen eine geringere Streuung. Die Häufigkeitsverteilung der Abweichung für Kolonien aus 9 verschiedenen Kulturen, gemessen an 9 Tagen (Kurve B) einerseits und andererseits für einheitliches Material, gemessen an 2 aufeinanderfolgenden Tagen (Kurve A) zeigt Abb. 2. In diesen Kurven wurden auch solche Kolonien berücksichtigt, die sich in schraubenförmigen statt in geradlinigen Bahnen bewegten; in diesem Falle wurde der Winkel gemessen, den die Achse dieser Schraube mit der Lichtrichtung bildet.

Zu Vergleichszwecken wurde auch die Abweichung bei *V. globator*, *V. tertius*, *Endorina elegans*, *Pandorina morum* und *Gonium sociale* aufgezeichnet. Das Ergebnis war das gleiche, für *Endorina* ist die Häufigkeitsverteilung der Abweichungswinkel in Abb. 3 (Kurve A) angegeben.

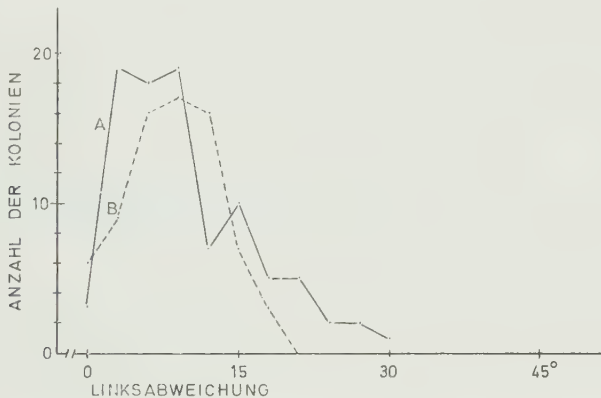


Abb. 3: Häufigkeitsverteilung der Abweichungswinkel. A: *E. elegans*, Phototaxis, B: *V. aureus*, Galvanotaxis.

Als Nächstes wurde die Abhängigkeit des Abweichungswinkels von der Intensität des orientierenden Lichtes untersucht, die durch Verwendung von Neutralgraufiltern variiert wurde.

Nach den Erfahrungen der vorhergehenden Versuche durfte für jede Meßreihe nur Material aus einer einzigen Kultur für die ganze Intensitätsskala verwendet werden, um möglichst einheitliche Werte zu erhalten. Dabei wurde zur Kontrolle die Reihenfolge der Intensitäten laufend geändert. Zwischen den einzelnen Versuchen einer Reihe lag jeweils eine Pause von 2 Stunden, in der sich das Material im Konstantraum bei 16°C und normaler Beleuchtung (1400 bis 2000 Lux) befand und lediglich vor Beginn des Versuches eine zehninütige Dunkelvorbehandlung erhielt.

Das Ergebnis ist in Abb. 4 wiedergegeben. Die Abweichungen der Winkelwerte für die einzelnen Intensitäten liegen innerhalb des dreifachen mittleren Fehlers; die Lichtintensität hat also zumindest in diesem Bereich von 1 : 1000 keinen signifikanten Einfluß auf die Größe der Linksabweichung.

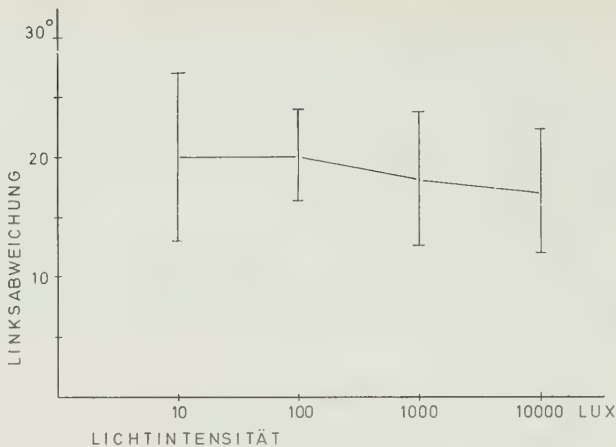


Abb. 4: Größe der Abweichungswinkel bei verschiedenen Lichtintensitäten mit ihrem dreifachen mittleren Fehler; *V. aureus*.

Galvanotaxis

Um zu prüfen, ob die Linksabweichung an die *Phototaxis* gebunden ist, oder ob sie bei *jeder* gerichteten Bewegung auftritt, wurde anschließend die Galvanotaxis bei *V. aureus* untersucht.

In der Anordnung der vorhergehenden Versuche wurde die Küvette durch eine gleich große ersetzt, bei der zwei gegenüberliegende Seiten ganz mit dünnem Blech überzogen waren. Um Küvette und Zeichenpapier genau aufeinander ausrichten zu können, war senkrecht zu den beiden Elektrodenwänden ein dünner Strich auf dem Boden des Gefäßes angebracht. An die Elektroden wurde eine Spannung von 5V ($= 1\text{V/cm}$) gelegt, wobei ein Strom von $50\ \mu\text{A}$ floß. Die Bewegungsbahnen der Algen wurden im roten Sicherheitslicht (OG3-Filter) aufgezeichnet.

Entsprechend den Ergebnissen von TERRY (1906) und BANCROFT (1907) wanderten die Algen ziemlich geschlossen zur Kathode. Wegen der elektrolytischen Vorgänge, die sich bei diesen Versuchen abspielten, wurde die Stromrichtung jeweils umgekehrt, ehe die Hauptmasse der Algen die unmittelbare Nähe der Kathode erreicht hatte, und die Bewegungsrichtung erneut bestimmt. Das Ergebnis (Abb. 3, Kurve B) zeigt eine deutliche Übereinstimmung mit den vorher gefundenen Werten, die Kolonien weichen stets nach links ab. Die Abweichung ist also an die gerichtete Bewegung der Kolonien gebunden, unabhängig von der Natur des orientierenden Faktors. Ob die Linksabweichung mit der Rotation der Kolonien ursächlich zusammenhängt, soll im folgenden Kapitel geprüft werden.

In diesem Zusammenhang erscheint bedeutungsvoll, daß alle hier untersuchten Algen gleiche Rotationsrichtung haben; sie drehen sich von vorn betrachtet im Uhrzeigersinn. Die Rotationsrichtung wird also, wie schon GERISCH (1959) gefunden hat, nicht geändert. Gegenteilige Angaben z. B. bei OLTMANNS (1922), der für *V. globator*

und *V. aureus* einen plötzlichen und unregelmäßigen Wechsel der Drehrichtung angibt, lassen sich als optische Täuschung nachweisen (GERISCH, 1959).

Der Einfluß von Rotation und Translation auf die Größe des Abweichungswinkels

Bei den vorhergehenden Versuchen entstand der Eindruck, als ob Kolonien mit schneller Rotation und geringer Translation stärker von der Lichtrichtung abweichen als Kolonien mit langsamer Rotation und schneller Translation. Dies sollte durch einige Messungen bestätigt werden.

Die Translationsgeschwindigkeit wurde mit einem Okularmikrometer bei der Bewegung auf die Lichtquelle zu gemessen. Nach einer kurzen Dunkelpause, in der sich die Kolonien wieder statistisch verteilen konnten, wurden in der vorher beschriebenen Weise die Bahnen der Kolonien aufgezeichnet und anschließend nach einer weiteren Dunkelpause unter gleichen Bedingungen (Bewegung auf die Lichtquelle zu) die Rotationsdauer gemessen.

Diese Versuchsreihe wurde mit Populationen von Kolonien aller Entwicklungsstadien vergleichend durchgeführt, da bei Kolonien verschiedener Größe das Verhältnis von Rotation zu Translation verschieden ist. Dabei zeigte sich tatsächlich eine Abhängigkeit des Abweichungswinkels von der Wegstrecke, die die Kolonie bei einer Umdrehung zurücklegt. Langsam rotierende, schnell schwimmende Kolonien wichen weniger von der Lichtrichtung ab als schnell rotierende und dabei langsam schwimmende. Das Ergebnis dieser Versuche ist in der Kurve in Abb. 5 festgehalten. Es deutet auf einen physikalischen Zusammenhang hin.

Der Drall einer Kugel bewirkt bei der Vorwärtsbewegung im Medium eine Ab-

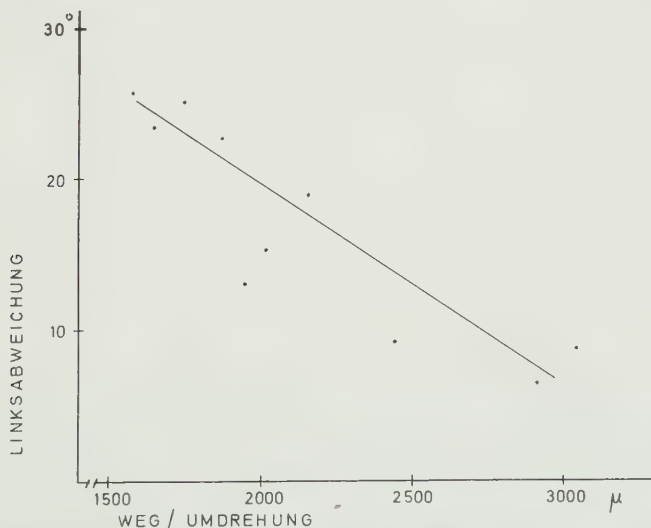


Abb. 5: Abhängigkeit des Abweichungswinkels von der Wegstrecke, die bei einer Umdrehung zurückgelegt wird; *V. aureus*.

weichung der Kugel in Drallrichtung (z. B. SAWATZKI, 1961). Die resultierenden Bahnen sind in diesem Fall allerdings Kurven, da die Kugeln hier nur einmal einen orientierenden Impuls erhalten.

Bei *Volvox* kommt aber zu diesem physikalischen Verhalten noch die Fähigkeit hinzu, sich kontinuierlich nach einem gerichteten Außenfaktor zu orientieren. Diese Fähigkeit wirkt der physikalischen Ablenkung entgegen. Da *Volvox* bereits Lichtrichtungsunterschiede von nur 10° perzipieren kann (HUTH, 1970), wird sehr schnell eine Orientierungsreaktion hervorgerufen, die die kurvenförmige physikalische Ablenkung auszugleichen sucht. Es wäre also zu erwarten, daß die Bahnen von *Volvox* ohne orientierenden Faktor (Licht oder elektrisches Feld) kurvenförmig sind.

In einem abschließenden Versuch wurden aus diesem Grund die Bahnen von *Volvox aureus* ohne Orientierungsreiz im Sicherheitslicht aufgezeichnet. Ein typisches Versuchsergebnis ist in Abb. 6 wiedergegeben. Die Kolonien bewegen sich auf nach links gekrümmten Bahnen.

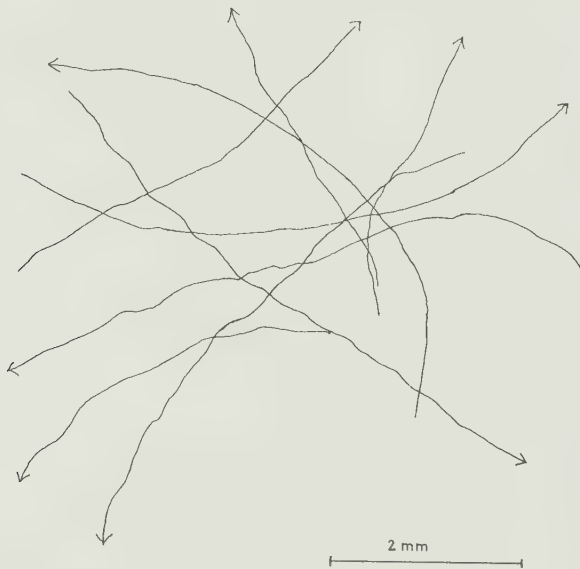


Abb. 6: Bewegungsbahnen von *V. aureus* ohne Orientierungsreiz.

Die kugeligen Volvocalen bewegen sich nicht parallel zur Richtung der Lichtstrahlen auf die Lichtquelle zu, sondern weichen mehr oder weniger stark nach links von der Lichtrichtung ab. Es konnte gezeigt werden, daß dieses der phototaktischen Orientierung entgegenwirkende Verhalten physikalisch durch die Vorwärtsbewegung im Medium bei gleichzeitiger Rotation bedingt ist. Die in den photo- und galvanotaktischen Versuchen gefundenen Geraden sind das Ergebnis einer Resultante aus taktischer Orientierung und physikalischer Ablenkung. Es zeigt sich also, daß die

Orientierungsbewegung bei *Volvox* komplexer Natur ist, und daß neben dem bereits früher beschriebenen Orientierungsmechanismus (HUTH, 1970) an der resultierenden Bewegungsrichtung auch noch die physikalischen Größen «Geschwindigkeit im Medium» und «Rotationsgeschwindigkeit» beteiligt sind.

Herrn Prof. Dr. W. HAUPT danke ich für kritische Diskussionen.

Literatur

- BANCROFT, F. W.: The mechanism of galvanotropic orientation in *Volvox*. J. Exper. Zool. 4, 157–163 (1907).
- GERISCH, G.: Die Zelldifferenzierung bei *Pleodorina californica* SHAW und die Organisation der Phytomonadenkolonien. Arch. f. Protistenkunde 104, 292–358 (1959).
- HUTH, K.: Bewegung und Orientierung bei *Volvox aureus* EHRB. I. Mechanismus der phototaktischen Reaktion. Z. Pflanzenphysiol. 62, 436–450 (1970).
- MAST, S. O.: The relation between spectral colour and stimulation in the lower organisms. J. Exper. Zool. 22, 472–528 (1917).
- OLTMANN, F.: Morphologie und Biologie der Algen. Bd. I, 2. Auflage. Gustav Fischer, Jena (1922).
- PRINGSHEIM, E. G.: Chlorophyllarme Algen I. *Chlamydomonas pallens* nov. spec. Kleine Mitteilungen über Flagellaten und Algen VIII. Arch. Mikrobiol. 45, 136–144 (1963).
- PRINGSHEIM, E. G., und O. PRINGSHEIM: Die Ernährung koloniebildender Volvocales. Biol. Zentralbl. 78, 937–971 (1959).
- SAWATZKI, O.: Über den Einfluß der Rotationen und der Wandstöße auf die Flugbahn kugelliger Teilchen im Luftstrom. 25. Einzelmitteilung des Instituts für Strömungslehre und Strömungsmaschinen an der Technischen Hochschule Fridericiana Karlsruhe (1961).
- TERRY, O. P.: Galvanotropism of *Volvox*. Amer. J. Physiol. 15, 235–243 (1906).

Dr. KLAUS HUTH, Institut für Meeresforschung, 285 Bremerhaven-G. Am Handelshafen 12.

Lebenslauf

Klaus H u t h

geboren am 13. Februar 1936 in Berlin als Sohn des Studienrates Dr. Willi Huth und seiner Ehefrau Liselotte, geb. Müller.

Schulbildung und Studium:

1941—1945 Besuch der Volksschulen in Berlin, Wien, Burgas (Bulgarien), Bad Tatzmannsdorf (Österreich), Krippen (Sachsen) und Fallersleben.

1946—1948 Oberschule für Jungen in Wolfsburg.

1948—1955 Gymnasium Ernestinum in Celle.

5. 3. 1955 Reifeprüfung an dieser Schule.

1955—1957 Apothekerpraktikant in der Adler-Apotheke in Celle.

1957—1962 Studium der Pharmazie an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.

1962—1963 Tätigkeit als Kandidat der Pharmazie in der Adler-Apotheke in Celle.

Seit dem Sommersemester 1963 Studium der Botanik an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg. Seit dem 1. September 1966 Verwalter einer Assistentenstelle.

Verheiratet seit 28. Dezember 1963 mit Ingeborg Huth, geb. Mälzig. Zwei Kinder.

